

二茂铁基查耳酮类化合物的合成及其抗乳腺癌活性研究

陈善龙¹, 谭娟^{2*}

1. 海南省人民医院 药学部, 海南 海口 570311

2. 武汉市第三医院 药学部, 湖北 武汉 430060

摘要: **目的** 设计并合成了二茂铁基查耳酮类化合物, 并对其抗乳腺癌活性进行研究。**方法** 通过 Claisen-Schmidt 缩合反应合成含有二茂铁基的查耳酮类化合物, 并通过 MTT 法对目标化合物的抗乳腺癌活性进行研究。**结果** 合成了 9 个含有二茂铁基查耳酮类化合物, 其结构均通过 ¹H-NMR、¹³C-NMR 进行了表征。生物活性结果表明, 目标化合物 1~9 对 MCF-7 和 MDA-MB-231 均具有较强的抑制活性, 其中化合物 6 对 MDA-MB-231 的抑制活性最强。**结论** 本研究为开发具有抗荷尔蒙非依赖型乳腺癌活性的查耳酮类化合物提供了参考。

关键词: 二茂铁基查耳酮; 合成; 抗乳腺癌活性

中图分类号: R914; R966

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2015)08-0913-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2015.08.002

Synthesis of ferrocenyl chalcone compounds and their anti-breast cancer activities

CHEN Shan-long¹, TAN Juan²

1. Department of Pharmacy, Hainan General Hospital, Haikou 570311, China

2. Department of Pharmacy, Wuhan Third Hospital, Wuhan 430060, China

Abstract: Objective To design and synthesize ferrocenyl chalcone compounds, and to study their anti-breast cancer activities.

Methods A series of ferrocenyl chalcones were synthesized by Claisen-Schmidt condensation reaction, and the anti-breast cancer activity was assessed by MTT method. **Results** Nine ferrocenyl chalcone compounds were synthesized and characterized by ¹H-NMR and ¹³C-NMR. The preliminary biological results showed that target compounds 1 — 9 displayed significant inhibitory activities on both MCF-7 and MDA-MB-231 cell lines. Specifically, compound 6 showed the best inhibitory activity against MDA-MB-231. **Conclusion** This study provides reference for development of chalcone compounds with inhibitory activity in hormone-independent breast cancer.

Key words: ferrocenyl chalcone; synthesis; anti-breast cancer activity

乳腺癌是女性癌症患者中最常见的一种癌症。美国癌症协会 (ACS) 报道在美国每年大约有 23 万妇女被诊断为乳腺癌, 其中大约 1.3 万患者年龄在 40 岁以下^[1]。目前临床上常用激素替代疗法, 其中他莫昔芬是临床上使用最为广泛的一线药物^[2-3], 然而长期使用增加了患者患其他癌症如子宫内膜癌的风险^[4]; 另外, 他莫昔芬对非荷尔蒙依赖型乳腺癌没有作用, 而这部分患者占乳腺癌患者的 1/3^[5-6]。因此, 为了能够更好克服已有药物的缺点, 近年来医药学家们一直致力于开发新型、高效的抗乳腺癌

药物^[7-8]。研究报道, 查耳酮类化合物具有抗乳腺癌活性^[9], 同时对正常的细胞基本没有毒性。因此, 进一步开发具有更好治疗乳腺癌效果的查耳酮类化合物具有重要的意义。为了增加药物对非荷尔蒙依赖型乳腺癌的治疗效果, 研究发现二茂铁是一个重要的化合物, 也具有抗肿瘤活性, 而且对正常的细胞没有毒性^[10]。2003 年 Top 等^[11]用二茂铁基代替他莫昔芬结构中的一个苯环, 得到了含有二茂铁基的化合物, 在随后的生物活性研究中发现该化合物不仅可以抑制荷尔蒙依赖型乳腺癌细胞 MCF-7, 而且

收稿日期: 2015-04-26

作者简介: 陈善龙 (1975—), 男, 学士学位, 主要从事新药开发、新制剂开发和评价研究工作。

*通信作者 谭娟 (1980—), 女, 硕士研究生, 主要从事新药开发、临床药理学和药理学研究工作。Tel: (027)65399485 E-mail: juantan@126.com

对非荷尔蒙依赖型乳腺癌细胞 MDA-MB-231 也有较好的作用。因此, 基于查耳酮和二茂铁较好的药理活性, 本课题组设计并合成了一系列含二茂铁基的查耳酮类化合物, 并采用 MTT 法对这些化合物的抗乳腺癌活性进行了研究。

1 仪器和试剂

1.1 仪器

Bruker AM-400 MHz 型核磁共振仪; FA(N)/JA(N)系列电子天平(上海民桥精密科学仪器有限公司); XR4 显微熔点测定仪(上海光学仪器厂); DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(河南巩义市予华仪器有限责任公司); 超净工作台(北京半导体设备一厂); BB16/BB5060 仪器 CO₂ 培养箱(上海力创科学仪器有限公司); CKX31 型倒置显微镜(奥林巴斯公司); ELx800 通用酶标仪(美国 BioTek 公司); GF254 硅胶薄层板(青岛海洋化工厂)。

1.2 试剂

他莫昔芬(质量分数≥99%)购自 Sigma 公司; 乙酰基二茂铁(质量分数≥95%)购自 Aladdin 公司; 芳香苯甲醛(质量分数≥95%)购自 Aladdin 公司; DMEM 培养基、胎牛血清购自 Hyclone 公司; 二甲基亚砜等其他试剂均为分析纯; 人乳腺癌 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞株购自武汉大学细胞典藏中心, 本实验室冻存使用。

2 方法与结果

2.1 合成部分

将单乙酰基二茂铁(1.167 g, 5.11 mmol)和相应的醛(5.11 mmol)置于 100 mL 单口瓶中, 加入 25 mL 甲醇, 室温搅拌 10 min 后, 将反应瓶置于冰浴中冷却, 缓慢加入 KOH(1.434 g, 25.6 mmol), 在室温下继续反应 12 h 后, 用 10% 盐酸调节溶液 pH 值至 3, 析出查耳酮沉淀, 滤过, 滤饼在真空干燥箱中干燥过夜, 即得到化合物 1~9。

1-二茂铁基-3-苯基-2-丙烯酮(1): 红色固体, 收率为 91%, mp 138~141 °C。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 7.70(d, *J*=15.6 Hz, 1H), 7.54(d, *J*=7.6 Hz, 2H), 7.31(m, 3H), 7.03(d, *J*=7.6 Hz, 1H), 4.82(s, 2H), 4.49(s, 2H), 4.11(s, 5H)。¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ: 193.00, 140.87, 135.16, 130.20, 129.01, 128.34, 122.99, 80.63, 72.92, 70.18, 69.81。

1-二茂铁基-3-(4-甲氧基苯基)-2-丙烯酮(2): 红色固体, 收率为 94%, mp 140~142 °C。¹H-NMR

(400 MHz, CDCl₃) δ: 7.67(d, *J*=15.6 Hz, 1H), 7.52(d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.92(d, *J*=15.6 Hz, 1H), 6.85(d, *J*=8.8 Hz, 2H), 4.83(s, 2H), 4.49(s, 2H), 4.13(s, 5H), 3.77(s, 3H, OCH₃)。 ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ: 193.07, 161.33, 140.68, 130.00, 127.83, 120.72, 114.42, 80.82, 72.66, 70.10, 69.71, 55.45。

1-二茂铁基-3-(3,4-二甲氧基苯基)-2-丙烯酮(3): 红色固体, 收率为 86%, mp 144~147 °C。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 7.65(d, *J*=15.6 Hz, 1H), 7.15(d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.06(s, 1H), 6.90(d, *J*=15.2 Hz, 1H), 6.80(d, *J*=8.4 Hz, 1H), 4.84(s, 2H), 4.48(s, 2H), 4.12(s, 5H), 3.87(s, 3H, OCH₃), 3.83(s, 3H, OCH₃)。 ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ: 192.96, 151.00, 149.16, 141.00, 128.05, 122.53, 120.95, 111.19, 110.35, 80.71, 72.68, 70.10, 69.61, 56.01。

1-二茂铁基-3-(4-氟苯基)-2-丙烯酮(4): 红色固体, 收率为 83%, mp 159~161 °C。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 7.66(d, *J*=15.2 Hz, 1H), 7.54(t, *J*=7.6 Hz, 2H), 7.01(t, *J*=8.4 Hz, 2H), 6.96(d, *J*=15.6 Hz, 1H), 4.83(s, 2H), 4.51(s, 2H), 4.13(s, 5H)。¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ: 192.84, 163.78, 139.60, 131.40, 130.20, 130.12, 122.68, 116.21, 113.99, 80.53, 72.91, 70.15, 69.76。

1-二茂铁基-3-(2-氯苯基)-2-丙烯酮(5): 红色固体, 收率为 81%, mp 164~166 °C。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 8.06(d, *J*=15.6 Hz, 1H), 7.63(t, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.32(m, 1H), 7.20(m, 2H), 6.99(d, *J*=15.6 Hz, 1H), 4.81(s, 2H), 4.49(s, 2H), 4.11(s, 5H)。¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ: 192.78, 136.64, 135.29, 133.51, 130.86, 130.33, 127.78, 127.16, 125.87, 80.37, 73.06, 70.23, 69.87。

1-二茂铁基-3-(4-氯苯基)-2-丙烯酮(6): 红色固体, 收率为 78%, mp 158~160 °C。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 7.64(d, *J*=15.6 Hz, 1H), 7.49(d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.30(d, *J*=8.4 Hz, 2H), 6.99(d, *J*=16.0 Hz, 1H), 4.83(s, 2H), 4.52(s, 2H), 4.13(s, 5H)。¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ: 192.76, 139.43, 135.92, 133.64, 129.47, 129.22, 123.36, 80.46, 72.99, 70.17, 69.78。

1-二茂铁基-3-(2-溴苯基)-2-丙烯酮(7): 红色固体, 收率为 80%, mp 163~165 °C。¹H-NMR(400

MHz, CDCl₃) δ: 8.01 (d, *J*=15.2 Hz, 1H), 7.61 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.50 (d, *J*=7.6 Hz, 1H), 7.25 (m, 1H), 7.11 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 6.93 (d, *J*=15.6 Hz, 1H), 4.80 (s, 2H), 4.48 (s, 2H), 4.10 (s, 5H)。¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 192.73, 139.17, 135.33, 133.58, 131.05, 127.90, 127.81, 126.13, 125.74, 80.31, 73.09, 70.26, 69.91。

1-二茂铁基-3-(4-溴苯基)-2-丙烯酮 (**8**): 红色固体, 收率为 75%, mp 162~164 °C。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.62 (d, *J*=15.6 Hz, 1H), 7.45 (d, *J*=7.6 Hz, 2H), 7.40 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.00 (d, *J*=15.6 Hz, 1H), 4.82 (s, 2H), 4.51 (s, 2H), 4.12 (s, 5H)。¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 192.79, 139.49, 134.09, 132.17, 129.70, 124.27, 123.49, 80.45, 73.03, 70.19, 69.81。

1-二茂铁基-3-(4-硝基苯基)-2-丙烯酮 (**9**): 红色固体, 收率为 72%, mp 171~173 °C。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.18 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.70 (m, 3H), 7.12 (d, *J*=15.6 Hz, 1H), 4.86 (s, 2H), 4.58 (s, 2H), 4.15 (s, 5H)。¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 192.25, 148.23, 141.51, 137.77, 128.82, 126.66, 124.23, 80.20, 73.43, 70.28, 69.87。

目标化合物的合成路线见图 1。

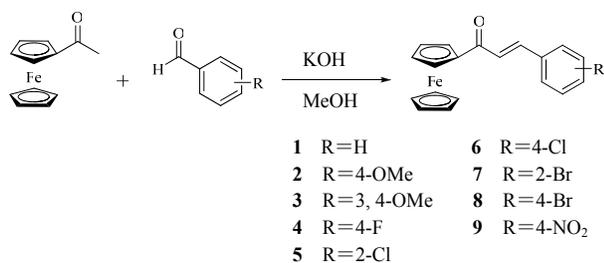


图 1 目标化合物的合成路线

Fig. 1 Synthetic route of target compound

2.2 抗乳腺癌活性研究

选取荷尔蒙依赖型乳腺癌细胞 MCF-7 和非荷尔蒙依赖型乳腺癌细胞 MDA-MB-231 为测试细胞株, 以他莫昔芬为阳性对照药, 采用 MTT 法对合成的查耳酮类化合物 **1**~**9** 进行抗乳腺癌活性评价。取对数生长期的 MCF-7 或 MDA-MB-231 细胞悬浮于含 10%胎牛血清的无酚红 DMEM 培养基中, 铺至 96 孔细胞培养板中。待细胞完全贴壁后, 弃去原培养液, 加入待测化合物, 浓度分别为 0.01、0.1、

1、10、100 μmol/L。药物处理培养 3 d 后, 每孔加入 30 μL 5 mg/mL MTT, 置于 37 °C、5%CO₂ 培养箱中继续孵育 4 h, 然后每孔加入 100 μL 二甲亚砜溶解。使用酶标仪在 490 nm 波长处测定每孔的吸光度 (*A*) 值, 并计算半数抑制浓度 (IC₅₀), 目标化合物 **1**~**9** 对 MCF-7 和 MDA-MB-231 均具有较强的抑制活性, 其中化合物 **6** 对 MDA-MB-231 的抑制活性最强。见表 1。

表 1 目标化合物对 MCF-7、MDA-MB-231 的细胞毒活性 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 1 Cytotoxic effects of target compounds against MCF-7 and MDA-MB-231 cells ($\bar{x} \pm s, n=5$)

化合物	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)	
	MCF-7	MDA-MB-231
1	42.6±1.78	38.7±3.13
2	52.1±1.99	22.9±1.06
3	30.7±2.11	23.5±2.18
4	18.4±0.98	29.4±1.49
5	23.8±2.61	19.6±2.56
6	25.5±1.83	10.7±1.41
7	30.7±1.26	18.7±2.16
8	35.4±0.95	22.1±1.05
9	20.9±1.07	16.7±0.73
他莫昔芬	19.3±1.30	>100

3 讨论

近几十年来, 乳腺癌的发病率在全世界范围内不断增加。目前在临床上治疗乳腺癌的一线药物主要是选择性雌激素受体调节剂如他莫昔芬、雷洛昔芬等^[12]。然而, 这些广泛应用的一线药物对荷尔蒙非依赖型乳腺癌基本上没有作用。为了寻找抗荷尔蒙非依赖型乳腺癌的药物, 本文通过经典的 Claisen-Schmidt 羟醛缩合反应合成了 9 个含有二茂铁基的查耳酮化合物, 并获得较好的收率, 另外初步筛选了这些化合物的抗乳腺癌活性。

从体外抗乳腺癌活性试验发现这些含有二茂铁基的查耳酮化合物对人乳腺癌 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞株均有较强的抑制作用。总的来说, 苯环上含有卤素和强吸电子基如 NO₂ 的抗乳腺癌活性较烷基取代的强; 同时, 这些含有二茂铁基的查耳酮化合物对 MDA-MB-231 细胞的抑制活性强于 MCF-7 细胞, 而阳性对照药物他莫昔芬对 MDA-MB-231 的抑制活性非常弱, 其中化合物 **6** 展现了最强

的抗乳腺癌 MDA-MB-231 细胞株的活性, 其活性至少是他莫昔芬的 9 倍, IC_{50} 值为 $10.7 \mu\text{mol/L}$ 。由此可见, 在查耳酮类化合物上引入二茂铁基团能够增强化合物对荷尔蒙非依赖型乳腺癌的抑制活性。这对设计新型、高效的抗荷尔蒙非依赖型乳腺癌药物积累了一定的数据和经验。

参考文献

- [1] Anders C K, Johnson R, Litton J K, *et al.* Breast cancer before age 40 years [J]. *Semin Oncol*, 2009, 36(3): 237-249.
- [2] Jordan V C. Tamoxifen: a most unlikely pioneering medicine [J]. *Nat Rev Drug Dis*, 2003, 2(3): 205-213.
- [3] Ariazi E A, Ariazi J L, Cordera F, *et al.* Estrogen receptors as therapeutic targets in breast cancer [J]. *Curr Top Med Chem*, 2006, 6(3): 181-202.
- [4] van Leeuwen F E, Benraadt J, Coebergh J W, *et al.* Risk of endometrial cancer after tamoxifen treatment of breast cancer [J]. *Lancet*, 1994, 343(8895): 448-452.
- [5] Brzozowski A M, Pike A C W, Dauter Z, *et al.* Molecular basis of agonism and antagonism in the oestrogen receptor [J]. *Nature*, 1997, 389(6652): 753-758.
- [6] Hortobagyi G N. Treatment of breast cancer [J]. *N Engl J Med*, 1998, 339(14): 974-984.
- [7] Munster P N, Marchion D, Thomas S, *et al.* Phase I trial of vorinostat and doxorubicin in solid tumours: histone deacetylase 2 expression as a predictive marker [J]. *Br J Cancer*, 2009, 101(7): 1044-1050.
- [8] Cázares Marinero Jde J, Lapierre M, Cavallès V, *et al.* Efficient new constructs against triple negative breast cancer cells: synthesis and preliminary biological study of ferrocifen-SAHA hybrids and related species [J]. *Dalton Trans*, 2013, 42(43): 15489-15501.
- [9] Wang Y, Chan F L, Chen S, *et al.* The plant polyphenol butein inhibits testosterone-induced proliferation in breast cancer cells expressing aromatase [J]. *Life Sci*, 2005, 77(1): 39-51.
- [10] Köpf-Maier P, Köpf H, Neuse E W. Ferricenium complexes: a new type of water-soluble antitumor agent [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 1984, 108(3): 336-340.
- [11] Top S, Vessières A, Leclercq G, *et al.* Synthesis, biochemical properties and molecular modelling studies of organometallic specific estrogen receptor modulators (SERMs), the ferrocifens and hydroxyferrocifens: evidence for an antiproliferative effect of hydroxyferrocifens on both hormone-dependent and hormone-independent breast cancer cell lines [J]. *Chemistry*, 2003, 9(21): 5223-5236.
- [12] 宋东伟, 徐 斌, 王玉姝, 等. 选择性雌激素受体调节剂组织选择性作用研究进展 [J]. *现代药物与临床*, 2014, 29(2): 206-210.